Aus der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen
Direktor: Prof. Dr. med. H. Bennhold

Der Einfluß kolloidaler Lösungen auf die Bakterienphagocytose in vitro

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der
Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
WILHELM NIEMEYER
aus Moers

1963

7626

Aus der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen
Direktor: Prof. Dr. med. H. Bennhold

Der Einfluß kolloidaler Lösungen auf die Bakterienphagocytose in vitro

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der
Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
WILHELM NIEMEYER
aus Moers

1963

UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Dekan: Prof. Dr. med. Karl Brecht

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. R. Schubert

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. F. Lembeck

Fotodruck PRÄZIS · Tübingen

INHALTSVERZEICHNIS

I. Einleitung und Problemstellung

II. Methodik

III. Versuchsergebnisse

1.) Coli-Phagocytose in Serum bei Zusatz von Kollidon

2.) Coli-Phagocytose in Serum bei Zusatz von Dextran

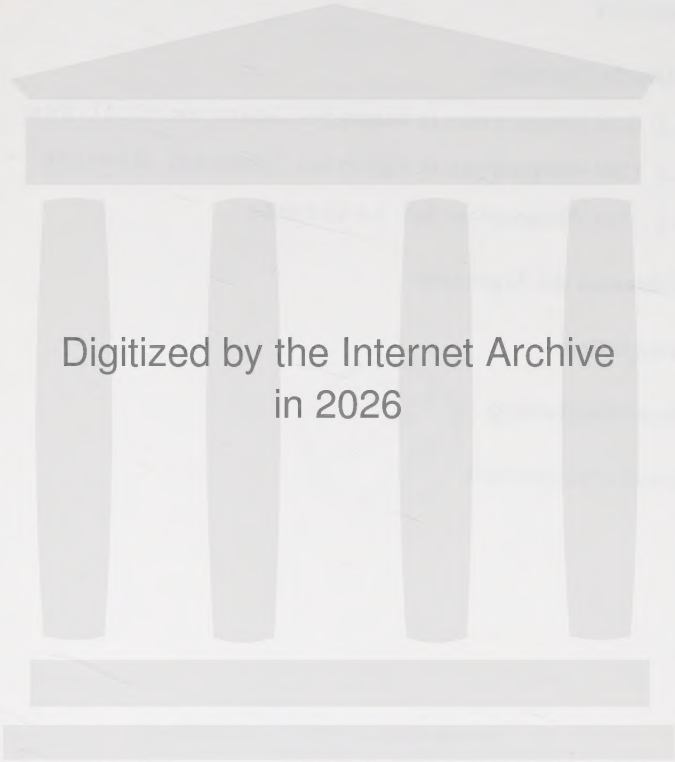
3.) Coli-Phagocytose bei Leukämie

IV. Diskussion der Ergebnisse

V. Fotografien

VI. Zusammenfassung

VII. Literaturverzeichnis


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547601_0117

EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

1943 fanden HECHT und WEESE im Periston eine neue Blutersatzflüssigkeit, die die Schwächen der bisher zu diesem Zweck infundierten Lösungen - wie jahrelange Speicherung und Schädigung in der Leber oder zu rasche Diffusion aus der Blutbahn - nicht mehr zeigte.

Aufgrund seiner Hydrophilie kann Kollidon, der kolloidale Bestandteil des Periston, seiner chemischen Natur nach ein Polyvinylpyrollidon, je nach Molekülgröße den gleichen kolloidosmotischen Druck entwickeln wie er durch Eiweiße des Serums erzeugt wird, ja es kann sogar bis zur Kapillarabdichtung kommen. Dabei ist aber zu beachten, daß man nur Kollidonfraktionen verwendet, deren Molekülgröße 60.000 nicht überschreitet, da sie sonst nicht mehr in ausreichender Menge mit dem Glomerulofiltrat ausgeschieden werden können.

Während Kollidon zunächst lediglich wegen seiner hämodynamischen Eigenschaften zur Auffüllung des Gefäßsystems bei starken Blutverlusten mit drohendem Kreislaufkollaps verwendet wurde, fand man bald aufgrund seiner starken adsorptiven Eigenschaften zusätzliche klinisch bedeutende Anwendungsgebiete. Aus der Adsorptionskraft des Kollidon, die oft sogar die des Eiweiß übertrifft, lassen sich die von SCHUBERT gefundenen Erscheinungen der Serumwäsche und der Gewebs - oder Zellwäsche erklären.

Bei der Serumwäsche werden sonst nicht nierenfähige Stoffe an Kollidon gebunden und mit dem Urin ausgeschieden, während man unter Gewebswäsche die Tatsache versteht, daß bereits im Gewebe abgelagerter Farbstoff durch Kollidongabe wieder herausgelöst wird.

Die adhäsive Bindungskraft des Kollidons beschränkt sich aber nicht nur auf Farbstoffe, sondern gewinnt besondere klinische Bedeutung, indem es Toxine und pharmakologische Gifte bindet und ausschleußt. Wenn sich nun eine solche Vielzahl klinischer Anwendungsmöglichkeiten für Kollidon zeigt, so ist es wichtig zu wissen, ob und wie es sich auf die einzelnen Zelleistungen auswirkt. Diese Fragestellung lag auch einer Untersuchung von SCHUBERT, FISCHER und BORNEMANN zugrunde.

Um den Einfluß verschiedener Molekulargewichts-Fraktionen von kolloidalen Lösungen auf die Phagocytose zu prüfen, schichtete man Kollidon in wechselnden Verdünnungsgraden über eine auf einem Deckgläschen haftende Leukozytenschicht. Nach einer gewissen Zeit wurde das Kollidon abgesaugt und durch in Ringerlösung aufgeschwemmte Stärkekörner ersetzt. Dabei fand man, daß die Fähigkeit der Leukozyten, Fremdkörper zu phagocytieren, durch Kollidon mit

niedrigem Molekulargewicht bei geringer Verdünnung gehemmt wird, jedoch bei Verdünnungen, wie sie etwa therapeutisch angewandt werden, sich keine hemmende Wirkung mehr zeigt.

Da bei dieser Arbeit im wesentlichen nur der mechanische Aspekt des Phagocytosevorgangs erfaßt wurde, versucht die nun vorliegende Arbeit zu erklären, wie sich die Leukozyten bei der Bakterienphagocytose unter dem Einfluß von Kollidon verhalten.

Außer Kollidon wurde auch die Wirkung für einige Dextranfraktionen untersucht, die ähnliche hämodynamische Wirkung haben wie Kollidon (GRÖNWALL und INGELMAN).

METHODIK

Um die Beeinflußbarkeit der Leukozytenvitalität durch verschiedene Lösungen zu bestimmen, bieten sich folgende gut meßbare Kriterien an, die je nach Reaktionslage des Organismus schwanken und so ein Anzeiger für dessen Momentansituation sind:

1) Wanderungsgeschwindigkeit
2) Pseudopodienbildung
3) Resistenz
4) Phagocytosefähigkeit
5) Haftfähigkeit

Für unsere Untersuchungen schien uns die Vitalitätsprüfung durch Beobachtung der Phagocytosefähigkeit am besten geeignet. Bei der Wahl der Methode kam es uns darauf an, in möglichst einfacher Weise ein reines Leukozytenpräparat zu erhalten, wobei es jedoch als wichtigste Forderung galt, die bei allen Manipulationen auftretenden unvermeidbaren Schädigungen möglichst gering zu halten.

Methoden, bei denen eine Leukozytenaufschwemmung gewonnen wird, indem man defibriniertes Blut zentrifugiert und schließlich die Leukozyten noch wäscht, schienen uns wegen der starken mechanischen Einwirkungen, die die empfindlichen weißen Blutkörperchen in wechselnd starkem Maße schädigen, nicht geeignet.

Wir wählten daher im Prinzip die Siess'sche Methode, die aufgrund der den weißen Blutzellen eigenen Fähigkeit der Thigmotaxis (SIESS) bei schonender Behandlung eine Leukozytengewinnung erlaubt: Aus zwei Korken, die durch zwei

feine Glasstäbe miteinander verbunden sind, wird ein Gestellchen hergerichtet, das mehrere Deckgläschen tragen kann. Die Glasstäbe werden mit Vaseline bestrichen, um ein Abrutschen der Deckgläschen zu verhindern.

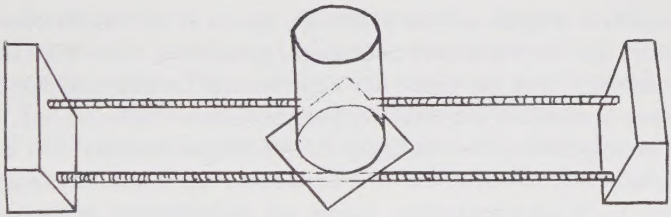


Abb. 1 Glaszylinder und Deckgläschen auf dem Gestell.

Um Fehler durch eventuell anhaftende Säurereste zu vermeiden, wurden Deckgläschen und Zylinder vorher in Akohol gelagert und zweimal in kochendem aqua dest. gewaschen. Nun trägt man jeweils einen Blutstropfen auf die Mitte der Deckgläschen auf, wobei man darauf achtet, daß die Blutstropfen möglichst untereinander gleich groß sind und bringt die Gestellchen in die feuchte Kammer eines Brutschranks, wo sie 25 min. verbleiben. Es ist peinlich darauf zu achten, daß in dieser Zeit die Temperatur innerhalb der feuchten Kammer konstant bleibt, da oberhalb der 37 Grad-Grenze mehr oder weniger ausgeprägte Koagulationserscheinungen des Plasmas auftreten, die die Phagocytose sehr schnell absinken lassen, andererseits bei niedrigeren Temperaturen weniger Leukozyten an den Deckgläschen haften.

Da Vorversuche ergeben hatten, daß die Phagocytose in Ringerlösung aus später noch anzuführenden Gründen unzureichend war, entschieden wir uns dafür, Serum zu nehmen, um das physiologische Milieu der Leukozyten beizubehalten. Um die-

ses zu gewinnen, mußten wir zunächst das Blut ungerinnbar machen. Viele der gebräuchlichen Anti-Gerinnungssubstanzen sind hier nicht zu verwenden, da sie entweder in positiver oder negativer Hinsicht die Phagocytose beeinflussen. ALLGÖWER zeigte, daß das viel benutzte Natriumzitrat einen deutlich hemmenden Einfluß auf die Phagocytose hat, der aber durch die stark fördernde Wirkung der Calcium-Ionen, die schon 1912 von HAMBURGER beschrieben wurde, aufgehoben werden kann. Auch Liquoid ist wegen seines schädigenden Einflusses auf die Leukozyten (ALLGÖWER) nicht anwendbar.
Am besten geeignet schien uns das Heparin, das zuerst ALLGÖWER auf seine Verwendbarkeit bei der Phagocytose untersuchte. Er fand dabei, daß es sich in höheren Konzentrationen stark hemmend auswirkt, während es in einer Konzentration von 1 : 100 die Phagocytose nicht merklich beeinflußt. Diese Ergebnisse konnten wir während unserer Versuche bestätigen. Wir fügten unserem Blut also Heparin im Verhältnis 1 :100 bei und zentrifugierten es dann 5 min. bei 200 U/min.
Nach dieser Zeit saugten wir das Serum ab, gaben es in ein Röhrchen und führten mit einer Öse die auf einem Schrägagar gehaltenen Coli-Bakterien zu. Es ist leicht einzusehen, daß die Größe des Verhältnisses Leukozyten/Bakterien einen wesentlichen Einfluß auf die Zahl der phagocytierten Bakterien hat. HAUKS beschrieb eine logarithmische Abhängigkeit der Phagocytosezahl von dem Zahlenverhältnis Leukozyten/Bakterien. Wir versuchten das Verhältnis Leukozyten/Bakterien = 1 : 50 gleichzuhalten, indem wir die Bakterien in einer Zeiß'schen Zählkammer auszählten.

Nun gaben wir die entsprechende Menge Bakteriensuspension in die verschiedenen Röhrchen mit den Versuchslösungen zusammen und stellten sie in den Brutschrank, um die Temperatur von 37 Grad zu erreichen.
Nach 25 min. nahmen wir die Gestellchen aus dem Brutschrank, da sich inzwischen der Blutkuchen retrahiert hatte und leicht mit einer Pinzette abgehoben werden konnte. Das nun noch vorhandene Serum und die Erythrozyten werden durch Auftropfen von Ringerlösung, die ebenfalls auf 37 Grad gebracht wurde, von den Deckgläschen abgespült.

Wir benutzen hier zur Trennung der Leukozyten von den übrigen Blutbestandteilen eine "funktionelle Eigentümlichkeit" (SCHILLING und SCHULZ) der Leukozyten, die, von PHILIPSBORN als Klebrigkeit bezeichnet, auch noch von anderen Autoren untersucht worden ist, wie u.a. von BAUDITSCH, der nachweist, daß die Haftfähigkeit der weißen Blutzellen durchaus nicht immer konstant ist, sondern sich mit dem Zustand des Organismus ändert.

Nach dem Abspülen stülpt man einen etwa 1 cm hohen Glaszylinder, dessen Rand vorher mit Vaseline bestrichen wurde, so auf das Deckgläschen, daß die

Leukozytenschicht innerhalb des Zylinders liegt.

Abb. 2 Der Zylinder schließt die Leukozytenschicht ein.

So kann man beliebige Flüssigkeiten zusetzen und auf die Leukozyten einwirken lassen.

Für den Phagocytosevorgang bringt man die Gestellchen nochmals für eine frei zu wählende Zeit - wir nahmen 25 min. - in den Brutschrank. Nach Ablauf dieser Zeit werden die Zylinder abgehoben, die Deckgläschen sorgfältig mit Ringerlösung abgespült, um die restlichen, nicht phagocytierten Bakterien zu entfernen, die sonst eine genaue Auszählung erschweren würden.

Nachdem die Präparate an der Luft getrocknet sind, werden sie nach Pappenheim gefärbt, und zwar ließen wir 1 1/2 min. May-Grünwald und 15 min. Giemsa-Lösung einwirken. Dabei färbten sich die Kerne leuchtend rot, die Coli blaurot; das Plasma ließ eine schwache Granulierung erkennen.
Mit einem Tropfen Eukitt fixierten wir die Präparate auf einem Deckglas und hatten so staub- und feuchtigkeitsunempfindliche Dauerpräparate, die sich auch farblich nicht mehr veränderten.

Bei der Entnahme achteten wir darauf, daß die Blutspender keine Infektionskrankheit hatten, ihr Blutbild keine Links- oder Rechtsverschiebung aufwies (KESTERMANN und VOGT) sowie ihre Serumeiweißwerte innerhalb der Norm lagen.

AUSWERTUNG

Die Präparate wurden bei Ölimmersion betrachtet und je 100 Zellen ausgezählt. Jedem Versuch wurde eine Kontrollphagocytose beigegeben, bei der die Leukozyten von einer Bakteriensuspension in reinem Serum ohne Zusatz von Versuchsflüssigkeiten überschichtet waren. Die Zahl der jeweils in diesen Präparaten aufgenommenen Bakterien wurde als 100 % genommen und die übrigen Phagocytosezahlen dazu in Beziehung gesetzt. Von jedem Einzelversuch wurden drei Präparate ausgezählt und die Ergebnisse in das Protokoll aufgenommen.

VERSUCHSERGEBNISSE
(Phagocytose bei Zugabe von Kollidon)

Wir wählten für unsere Versuche drei Kollidonfraktionen mit möglichst unterschiedlichem Molekulargewicht, da die das Kollidon charakterisierende Adsorptionskraft mit den in den Gliedern der einzelnen Molekülketten enthaltenen CO-NH Gruppen parallel geht und so eine recht unterschiedliche Wirkungsstärke gegeben war.

Tab. 1: KOLLIDON - PHAGOCYTOSE

Verdünnung	Kontr.	12600	25000	140000	Kontr.	12600	25000	140000
	330	168	173	156				
1 : 1	308	210	212	140				
	322	192	158	131				
Mittel	320	190	181	142	100%	59%	56%	44%
	413	287	263	198				
1 : 1	461	252	254	182				
	418	311	217	227				
Mittel	430	283	244	202	100%	66%	59%	47%
	218	215	189	155				
1 : 0,5	186	222	198	140				
	146	207	177	203				
Mittel	183	215	186	166	100%	117%	101%	91%
	327	427	334	282				
1 : 0,5	369	398	318	309				
	314	433	291	254				
Mittel	337	419	314	281	100%	120%	93%	85%
	121	147	159	124				
1 : 0,3	127	147	108	103				
	135	158	113	113				
Mittel	128	150	126	113	100%	114%	99%	88%
	290	312	260	280				
1 : 0,3	277	330	293	286				
	308	319	281	257				
Mittel	292	320	278	274	100%	110%	95%	94%
	362	392	353	317				
1 : 0,1	381	347	358	359				
	349	376	375	328				
Mittel	364	372	362	334	100%	102%	100%	91%
	191	211	204	186				
1 : 0,1	220	186	229	203				
	217	195	210	209				
Mittel	209	197	214	195	100%	94%	103%	95%

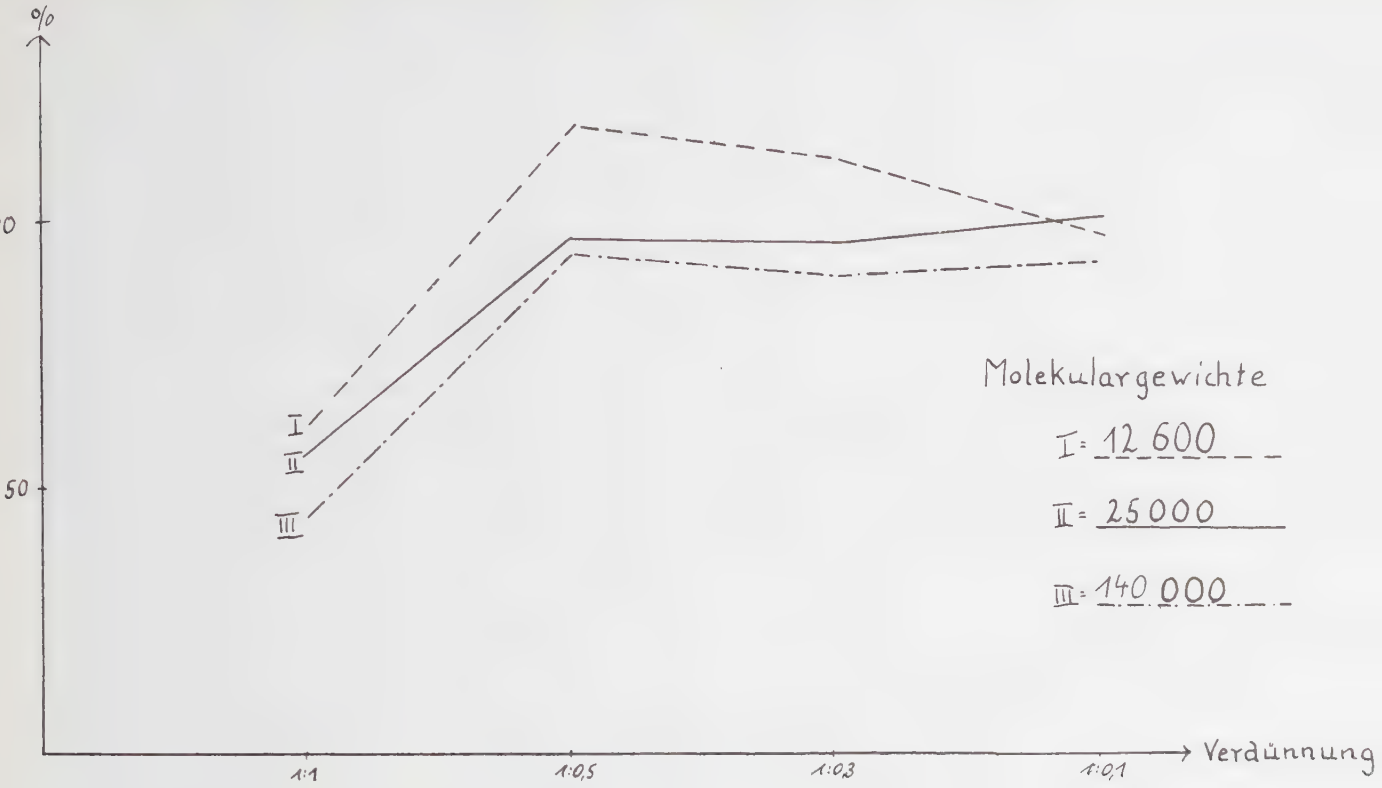


Abb. 3 **Coli**-Phagocytose bei Zugabe von Kollidon

Verdünnung	Kontrolle	12 600	25 000	140 000
1 : 1	100%	62,5%	57,5%	45,5%
1 : 0,5	100%	118,5%	98 %	94 %
1 : 0,3	100%	112 %	97 %	91 %
1 : 0,1	100%	98 %	101,5%	93,5%

Tab. II: Mittelwerte der Kollidon-Phagocytose.

Verdünnen wir das Serum mit den verschiedenen Kollidonfraktionen im Verhältnis 1 : 1, so ist deutlich ersichtlich, daß bei dieser starken Verdünnung eine erhebliche Hemmung der Phagocytose eintritt, und zwar mit einer steigenden Tendenz von niedrigem zu hohem Molekulargewicht.

Bei der Verdünnung 1 : 0,5 zeigt sich zum Teil eine überraschende Änderung der Verhältnisse. Unter dem Einfluß der Fraktion 12 600 finden wir erhöhte Werte, bei den Fraktionen 25 000 und 140 000 scheinen sich die fördernden und hemmenden Einflüsse auszugleichen. Die weiteren Ergebnisse zeigen, daß die steigernde Wirkung des PVP 12 600 bei geringerer Gabe zurückgeht; das Ergebnis bei PVP 25 000 und PVP 140 000 ist nahezu gleichgeblieben.
Bei der Verdünnung 1 : 0,1 haben alle drei Molekulargewichtsfraktionen keinen nennenswerten Einfluß mehr.

Bevor wir die Ergebnisse zu deuten versuchen, bringen wir noch die Resultate, die wir bei der Zugabe von 3 Dextranfraktionen erhalten haben, sowie die Werte der Leukämie-Phagocytose. Auch beim Dextran haben wir wieder möglichst weit auseinanderliegende Molekulargewichtsfraktionen gewählt.

Tab. III: DEXTRAN - PHAGOCYTOSE

Verdünnung	Kontr.	10000	80000	500000	Kontr.	10000	80000	500000
	152	72	101	54				
1 : 1	168	101	92	89				
	133	91	93	70				
Mittel	151	88	95	71	100%	59%	62%	47%
	244	167	112	102				
1 : 1	251	132	128	80				
	236	141	136	119				
Mittel	243	146	125	100	100%	60%	53%	41%
	142	186	160	112				
1 : 0,5	128	179	141	106				
	185	162	145	113				
Mittel	151	176	148	110	100%	114%	98%	73%
	261	327	287	243				
1 : 0,5	274	309	312	224				
	295	341	305	212				
Mittel	276	328	301	226	100%	117%	109%	83%
	333	345	349	318				
1 : 0,3	328	351	306	329				
	347	327	312	284				
Mittel	336	341	322	310	100%	101%	96%	92%
	204	221	237	165				
1 : 0,3	209	217	200	187				
	180	193	189	178				
Mittel	198	210	280	177	100%	106%	105%	91%
	168	155	174	163				
1 : 0,1	189	160	161	169				
	172	172	175	184				
Mittel	176	167	170	172	100%	92%	97%	98%
	141	152	159	142				
1 : 0,1	161	170	156	150				
	157	155	144	138				
Mittel	153	159	153	143	100%	104%	100%	94%

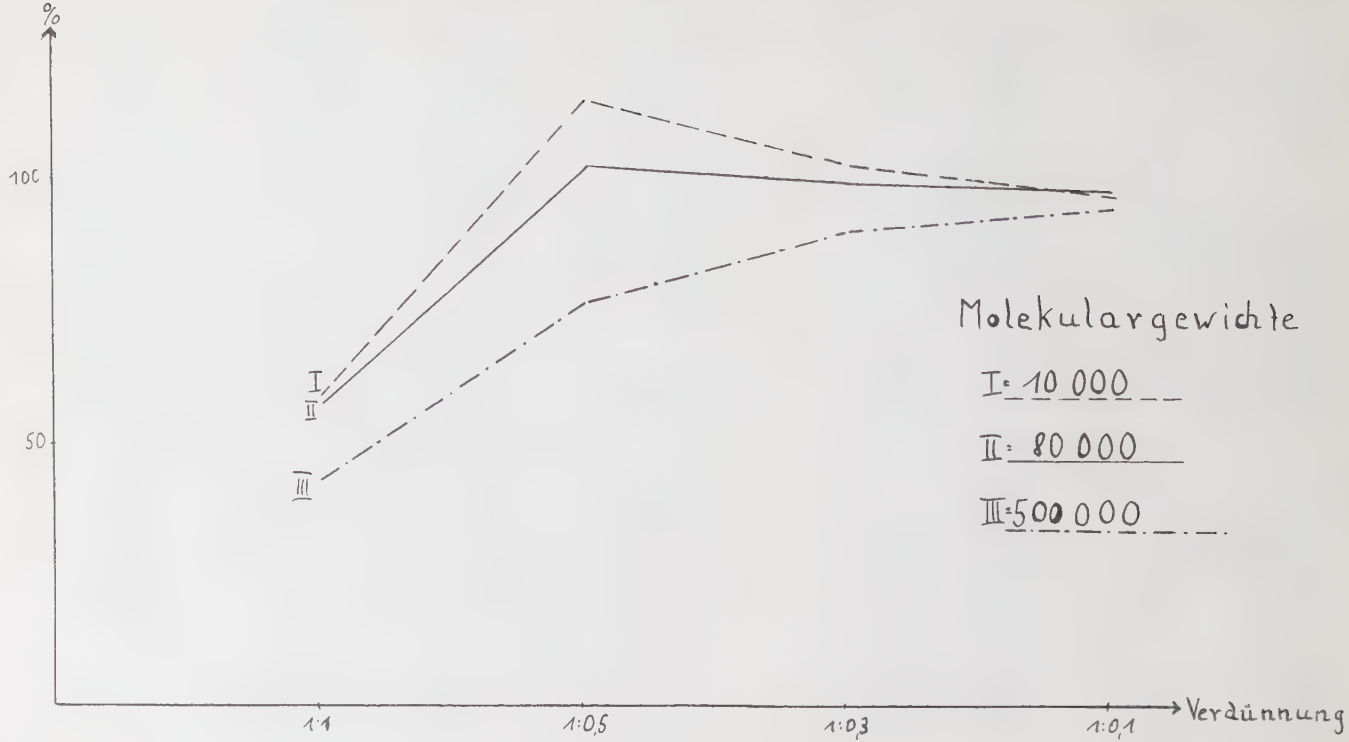


Abb. 4 Coli-Phagocytose bei Zugabe von Dextran

Verdünnung	Kontrolle	10 000	80 000	500 000
1 : 1	100%	59,5%	57,5%	44 %
1 : 0,5	100%	115,5%	103,5%	78 %
1 : 0,3	100%	103,5%	100,5%	91,5%
1 : 0,1	100%	98 %	98,5%	96 %

Tab. IV: Mittelwerte der Dextran-Phagocytose.

Genau wie bei den Kollidonwerten zeigt sich auch hier wieder bei dem relativ hohen Verdünnungsgrad eine deutliche Verminderung der Vitalität der weißen Blutkörperchen, die wiederum bei dem hohen Molekulargewicht am stärksten ausgeprägt ist. Bei niedrigeren Verdünnungsgraden erfährt die Phagocytose gegenüber der Kontrolle eine geringe Steigerung, während die Fraktion mit dem hohen Molekulargewicht weiterhin hemmt.
Verdünnen wir noch weniger, dann hat Dextran keinen erkennbaren Einfluß auf die Phagocytose mehr.

Coli-Phagocytose bei Leukämie.

Bei dem dritten Teil dieser Arbeit interessierte uns folgende Fragestellung: Es ist von Patienten, die an Leukämie leiden, bekannt, daß sie besonders leicht von Infektionskrankheiten befallen werden. Ist diese Schwäche der Infektabwehr nun zum Teil dadurch bedingt, daß sich der biologische Wert der Leukozyten schlechthin vermindert hat?

Um dieser Frage nachzugehen, haben wir je zwei Präparate von Patienten mit chronischer myeloischer Leukämie und je zwei von gesunden Personen hergestellt. Beiden boten wir Coli-Bakterien an, und zwar einmal in reinem Serum und einmal in einer Serum-Kollidon-Aufschwemmung im Verhältnis 1 : 1. Vom Kollidon wählten wir die hochmolekulare Fraktion, von der wir aus vorhergehenden Versuchen wußten, daß sie eine deutliche Hemmung ausüben würde. Wiesen die den Leukämiekranken entnommenen Blutzellen eine allgemeine Minderwertigkeit auf, dann müßten sie dem hemmenden Einfluß des Kollidons sehr wahrscheinlich noch deutlicher erliegen, als es die normalen Leukozyten getan haben.

Wir führten die Versuche in drei Fällen durch mit jeweils 4 Präparaten und kamen zu folgenden Ergebnissen:

	Kontr.	Kontr.+ Koll.	x Test	Test+ Koll.	Kontr.	Kontr.+ Koll.	Test	Test+ Koll.
	212	140	38	23				
I	197	91	44	15				
	223	117	61	17				
	211	116	48	18	100%	55%	22,5%	8,5%
	321	123	116	50				
II	280	149	112	36				
	316	132	84	45				
	306	135	104	43	100%	44%	34 %	14,5%
	312	120	70	19				
III	283	158	67	39				
	259	161	85	23				
	285	146	74	27	100%	52%	26 %	9,5%

x Test = Leukämiepräparat

Tab. V: Phagocytosewerte bei Leukämie.

Wie die Prozentzahlen zeigen, entspricht die Abnahme des Kontrollwertes bei Kollidonzugabe den Ergebnissen der vorhergehenden Versuche. Die Leukämiephagocytose ist gegenüber der Kontrollphagocytose ganz beträchtlich abgefallen und zwar um rund 75 %. Betrachten wir aber die Verhältnisse zwischen den Werten, die wir durch Kollidon- und denen, die wir durch unverdünnte Serumzugabe erhalten haben, dann kann man keinen verwertbaren Unterschied zwischen den Resultaten der Leukämie- und der Kontrollpräparate herauslesen. Dies bedeutet aber, daß die Auswirkungen des hemmenden Einflusses von Kollidon auf die leukämischen Zellen nicht größer sind als auf die Leukocyten, die von Gesunden gewonnen worden sind.

Erinnern wir uns nun an die oben formulierte Fragestellung, dann liegt zur Beantwortung der Schluß nahe, daß die Leukozyten bei der myeloischen Leukämie keine generalisierte Schwächung erfahren, sondern daß die verminderte Phagocytoseleistung durch die hohe Zahl der ins periphere Blut ausgeschütteten unreifen Blutzellen bedingt ist, die ihre biologische Funktion noch nicht ganz erfüllen können.

Um Beeinflussungen seitens des Serums auszuschließen, hat REMY durch Austauschverfahren nachgewiesen, daß die Abnahme der Phagocytosefähigkeit bei den chronischen Myelosen nicht auf serologischen Ursachen beruhen kann.

DISKUSSION.

Die Phagocytose, ein rein physiko-chemischer oder ein rein biologischer Vorgang?

Um die Versuchsergebnisse deuten zu können, muß man sich zunächst noch einen Überblick über die einzelnen Faktoren verschaffen, von denen man weiß, daß sie beim Phagocytosevorgang eine Bedeutung haben.
Bevor wir nun diesen "sinnvollen Teil einer einheitlich gesteuerten Abwehrmaßnahme", wie HOFF die Phagocytose verstehen möchte, in viele Einzelfakten zerlegen, deren Beziehung zueinander oft noch unklar ist, müssen wir uns vor Augen führen, daß die meisten dieser Klärungsversuche auf dem weiten Feld zwischen einer mechanischen Auffassung der Phagocytoseleistung (FRITZE) und der Annahme eines vorwiegend biologischen Vorgangs (WEINBRENNER) liegen.

Sicher ist an dieser Stelle BRAUNSTEINER zuzustimmen, wenn er die Ursachen der Zelleistungen als "in einem Grenzgebiet zwischen echten Lebensäußerungen einerseits und rein physikalisch-chemisch erklärbaren Oberflächenveränderungen" liegend sieht und darauf hinweist, daß die Deutungen deshalb so schwierig seien und zu Spekulationen verführten, "da sich der primär klinisch tätige Mediziner nur selten die nötigen theoretischen und methodischen Kenntnisse aneignen kann, und umgekehrt den theoretischen Fächern die Brücke zu gewissen klinischen Bedürfnissen und Denkgewohnheiten mitunter verlorengegangen ist."

Es erweist sich auch als sehr nachteilig, daß sich die Versuchsbedingungen der meisten Autoren voneinander unterscheiden. Manche geben das zu phagocytierende Material zu einer bestimmten Menge Blutes, das durch Defibrinieren oder Gaben chemischer Stoffe ungerinnbar gemacht worden ist. Andere gewinnen reine Leukozytenpräparate durch Zentrifugieren und anschließendes Waschen der weißen Blutzellen (TULLIUS). Daß diese massiven Eingriffe nicht ohne verändernde Einflüsse auf die empfindlichen Leukozyten bleiben können, braucht kaum besonders erwähnt zu werden. So zeigt z. B. PLANT, daß ungewaschene Leukozyten Stärkekörner aufnehmen, während gewaschene die Fähigkeit dazu verloren haben. Weiter geben HÖBER und MOND an, daß durch mehrfaches Waschen die Ladung der weißen und roten Blutzellen steigt.

So kommt es, daß viele einander widersprechende Ergebnisse gewonnen wurden, die eine einheitliche Gesamtdeutung erheblich erschweren.

Bei seinen Untersuchungen über die Wanderungsgeschwindigkeit der Blutkörperchen geht FRITZE von der Überlegung aus, daß die Leukozyten physikalisch Flüs-

sigkeitstropfen sind, deren Form eine Funktion ihrer Oberflächenspannung ist. Die Ausbildung von Pseudopodien und damit die Fähigkeit, einen Fremdkörper zu umfließen, erfolgt durch lokale Herabsetzung der Oberflächenspannung. Ihr entgegen wirkt die Oberflächenladung, die eine Vergrößerung der Oberfläche anstrebt. Wenn sich nun das Potential der Leukozyten z.B. erniedrigt, dann bedeutet das eine Erhöhung der Oberflächenspannung, die die Phagocytose erschwert.

Um weiterhin die Bedeutung einer physikalischen Betrachtungsweise des Phagocytosevorgangs darzutun, zeigt er die Ergebnisse von verschiedenen Autoren, die eine elektrische Zelladung für diesen Prozeß verantwortlich machen (HÖBER und KANAI), indem sie die Abhängigkeit des Phagocytosevermögens von der Plasmazusammensetzung - der Verteilung von Eiweißkörpern und Elektrolyten - betonen. Ferner weist er mit BAUMGARTNER und REINER auf die Möglichkeit hin, durch unspezifische Substanzen die Phagocytose zu fördern, und zieht so den Schluß, daß der Phagocytosevorgang ein rein physiko-chemisches Phänomen sei, dessen Beziehung zur Oberflächenladung der Zellen nicht von der Hand zu weisen sei.

Die Bedeutung der Ionenstärke, des pH, der Plasmaproteine und des Zellpotentials beim Phagocytosevorgang.

Bei seinen ausführlichen Kataphoreseuntersuchungen über die Wanderungsgeschwindigkeit der Leukozyten, die eine Funktion ihrer Ladung ist, kommt er im einzelnen zu folgenden Ergebnissen:

1) Mit steigender Ionenstärke sinkt das Potential.
2) Eine Veränderung der aktuellen Plasmareaktion zur sauren Seite läßt das Potential sinken.

Machen wir uns die These von FRITZE zu eigen, daß ein Sinken des Potentials eine Verminderung der Phagocytoseleistung bedeutet, so steht er mit dem unter 2) genannten Ergebnis im Gegensatz zu fast allen anderen Autoren (WEINBRENNER), die eine Begünstigung der Phagocytose bei Verschiebung zum sauren pH finden.

Beiden Anschauungen widersprechen die Ergebnisse von ADO, der die Ladungen der Leukozyten für die verschiedenen pH Werte im Exsudat untersuchte. Er konnte bei Schwankungen von pH 7-4 der aktuellen Reaktion des Exsudats keine direkte Abhängigkeit zwischen der H^+ Konzentration und dem elektrokinetischen Potential der Leukozyten wahrnehmen. Es ist allerdings zu beachten, daß es sich hier um Exsudatleukozyten handelt, die einem eventuellen Regulationsmechanismus des Blutes entzogen sind.

An dieser Stelle ist vielleicht darauf hinzuweisen, daß der Phagocytosevorgang nicht nur eine Funktion des Leukozyten und des auf ihn wirkenden Milieus ist, sondern daß auch die Bakterien als lebende Mikroorganismen auf Umweltreize reagieren und sich in Eigenschaften ändern können, die für die Phagocytose mitentscheidend sind.

OKER-BLOOM z.B. erzielte erhöhte Phagocytosewerte bei Behandlung von Bakterien - er arbeitete mit Staphylokokken - mit Säure und fand eine verminderte Phagocytose bei Einwirkung von alkalischen Flüssigkeiten.

Hierin mag eine Erklärung liegen für die Unterschiedlichkeit der Ergebnisse, die SCHUBERT, FISCHER und BORNEMANN im Gegensatz zu den in dieser Arbeit vorgelegten erhalten haben. Während jene mit Stärkekörnern als unbelebten Partikelchen arbeiteten, verwandten wir Bakterien, denen doch die Reizbarkeit und damit die Reizbeantwortung als grundlegendes Kriterium des Lebendigen zueigen ist.
3) Mit einer Verringerung der an der Zellwand adsorbierten Plasmabestandteile steigt die Ladung der Blutzellen.
Nach Meinung FRITZE'S werden die Eiweiße an der Zelloberfläche adsorbiert und bedingen so ein Mischpotential aus Zell- und Proteinladung.

Bereits BECHOLD und HAMBURGER haben die Bedeutung der Serumproteine erkannt, und später hat ADO festgestellt, daß im eiweißfreien Medium die Leukozyten stärker geladen sind als im Serum. Auf die Bedeutung dieser Zusammenhänge wird noch an anderer Stelle dieser Arbeit eingegangen werden.
4) Durch Untersuchungen mit dem Blut Leukämiekranker kommt er zu dem Ergebnis, daß innerhalb der Entwicklungsreihe der Leukopoese das Zellpotential von den unreifen Myeloblasten bis zu den segmentkernigen Granulocyten zunimmt. So würden also die meisten biologischen Zellfunktionen erst mit steigender Zelladung möglich.

Diesen Ergebnissen widersprechen die Untersuchungen zweier französischer Forscher, ROBINEAUX und BAZIN, die bei den jugendlichen, unreifen Leukozytenformen eine höhere Ladung fanden als bei den reifen Formen.

Auch FINDLAY und BROWN kommen zu dem Ergebnis, daß die Makrophagen der Milz eine um so größere Phagocytoseaktivität aufweisen, je niedriger ihre elektrische Ladung ist.

Ohne die oben genannten widerspruchsvollen Ergebnisse gegeneinader abzuwägen, möchten wir zunächst an eine Arbeit erinnern, die uns vielleicht in der Erklärung unserer Resultate weiterhelfen kann.

Entnimmt man einem in der Infektionsabwehr begriffenen Organismus Blut, so ist bekannt, daß die darin enthaltenen Leukozyten eine höhere Vitalität aufweisen als zu einer Zeit, in der der Organismus "gesund" ist. Bei der Beobachtung fieberhafter Erkrankungen stellten nun EHRLICH und TÜRK eine gesetzmäßige Reaktionsfolge der Leukozyten fest, d.h. sie fanden, daß bis zum Höhepunkt der Krankheit ein Anstieg der neutrophilen Leukozyten bei einem gleichzeitigen Abfall der eosinophilen erfolgt. In der abklingenden zweiten Phase stellt sich das alte Verhältnis durch einen Abfall der Neutrophilen und einen Anstieg der Eosinophilen wieder her. Interessant ist dabei, daß die Neutrophilen schon im Normalzustand besser phagocytieren als die Eosinophilen und diese wiederum besser als die Basophilen. Von daher gesehen wäre die Verschiebung des Zahlenverhältnisses durchaus sinnvoll zu erklären.

Weiterhin aber berichtet HOFF über einen Abfall der Alkalireserve und eine Erniedrigung des Albumin/Globulin Quotienten in der ersten Phase, die sich beide in der zweiten Phase durch eine gegenteilige Entwickung wieder normalisieren. Auch diese Tatsachen sind nach den bekannten Ergebnissen gut einzuordnen. Der Abfall der Alkalireserve bedeutet nichts anderes als eine gewisse Acidose, d.h. eine - wenn auch geringe - Verschiebung des Blut-pH zur sauren Seite hin. Es ist auch bekannt, daß in einem Entzündungsgebiet, in dem ja ein mehr sauerer pH herrscht als in dem umgebenden Gewebe, die Phagocytosewerte erheblich erhöht sind.

Die Abhängigkeit des Zellpotentials von verschiedenen Faktoren.

Fassen wir nun das Wesentliche der bisherigen Diskussion zusammen, so kann man sagen: Übereinstimmung besteht bei den meisten Autoren darüber, daß ein enger Zusammenhang zwischen elektrischer Zelladung und der Phagocytosefähigkeit vorhanden ist.
Unterschiedlich beurteilt wird nur die Frage, ob die Zellvitalität mit steigendem oder mit fallendem Potential zunimmt: FRITZE, ROBINEAUX. Wenn ROBINEAUX und BAZIN in ihren Untersuchungen über die Ladung der Leukozyten feststellen, daß zwischen normalen Zellen und leukämischen Zellen der gleichen Reifestufe bezüglich der elektrostatischen Ladung keine Unterschiede bestehen, so kann man dies Resultat, wenn man der Ladung die Bedeutung zuerteilt, die ihr die genannten Autoren geben, als Stützung unseres Schlusses ansehen, daß die reifen Blutzellen der Leukämiekranken in ihrer Vitalität nicht geschwächt sind.

Die durch verschiedene Autoren gemessenen Schwankungen des elektrokinetischen Potentials der Leukozyten sind nun entweder durch zelleigene Faktoren bedingt (z.B. Reifegrad der Zellen) oder sie werden durch Faktoren verursacht, die

von der Umgebung auf die Blutzellen einwirken (z. B. Elektrolyte, Proteine). Da diese während unserer Versuche zahlenmäßig nicht konstant gehalten werden konnten und so einen verschieden starken Einfluß auf die Phagocytosefähigkeit der Leukozyten ausübten, wollen wir ihre Bedeutung noch ein wenig deutlicher darstellen.

PIPER und RUHENSTROTH konnten, wie schon andere Untersucher, eine Abnahme der Zelladung durch Adsorption von Protein an der Zelloberfläche registrieren, und weitere Untersuchungen zeigten ihnen, daß die Globuline in diesem Sinne wesentlich stärker wirkten als die Albumine.

An dieser Stelle sind noch zwei Arbeiten von ALLGÖWER sowie KETCHEL zu erwähnen, die beide die Wirkung von Blutserumfraktionen auf die Wanderungsgeschwindigkeit der Leukozyten untersuchten. Beide finden sie - unabhängig voneinander - in den Globulinen ein starkes Stimulans für die Wanderungsgeschwindigkeit und unter ihnen die γ-Fraktion als deutlichstes Agens in dieser Richtung.

In Anwendung der Versuchsergebnisse von PIPER und RUHENSTROTH bedeutet dies aber nichts anderes, als daß die γ-Globuline am stärksten die ursprüngliche elektrostatische Ladung der Leukozyten vermindern und so deren Wanderungsgeschwindigkeit und damit die Intensität der Phagocytose-ALLGÖWER weist darauf hin, daß sich beide analog verhalten-steigern.

Diese Annahme bedeutet Übereinstimmung mit den Ergebnissen von ROBINEAUX und BAZIN und einen Widerspruch zu den Messungen von FRITZE.

Nun hängt aber die Proteinadsorption weiter nach den Untersuchungen von PIPER und RUHENSTROTH von der Ionenstärke, dem pH, sowie der Art und Konzentration der Proteine der Aufschwemmungsflüssigkeit ab, und zwar folgendermaßen:

a) Je höher die Ionenstärke, um so weniger Protein bindet sich an die Zellen.

Da die Serumproteine nach allgemeiner Ansicht die native Ladung der Blutkörperchen vermindern (LEY), werden durch diese Messungen die bereits zitierten Feststellungen von FRITZE widerlegt, der bei steigender Ionenstärke eine Verminderung des Zellpotentials fand.

Für unsere Untersuchungen würde dies folgendes bedeuten: Sowohl Kollidon als auch Dextran sind nur in geringem Maße ionisiert, d.h. sie wandern nur langsam zur Anode, und sie müßten bei einer Zugabe zum Serum zu einer Verminderung der elektrostatischen Zelladung führen.

b) Die Proteine binden sich bei zunehmender Verminderung des pH in immer geringerem Maße an die Zelloberfläche.
Die pH-Werte der von uns verwandten Kollidon- bzw. Dextranfraktionen lagen nach unseren Messungen folgendermaßen:

Kollidon			Dextran		
Mol. Gew.		pH	Mol. Gew.		pH
12 600	=	4,4	10 000	=	4,4
25 000	=	3,5	80 000	=	5,0
140 000	=	3,1	500 000	=	5,2

Fügten wir zum Serum (pH = 7,35) Kollidon bzw. Dextran im Verhältnis 1 : 1 hinzu, dann maßen wir:

Mol. Gew.		pH	Mol. Gew.		pH
12 600	+ Serum =	7,18	10 000	+ Serum =	7,2
25 000	+ Serum =	7,15	80 000	+ Serum =	7,22
140 000	+ Serum =	7,09	500 000	+ Serum =	7,22

Durch Kollidon bzw. Dextrangaben sank der pH des Serums bei unseren Versuchen also unter den physiologischen Wert ab, was zu einer Erhöhung der Zelladung geführt haben muß.

c) Die Bindung des Proteins an die Zellwand wird durch Erhöhung der Proteinkonzentration begünstigt.

Während unserer Versuche wurde nun das Serum in verschieden starkem Maße verdünnt, was gleichbedeutend ist mit einer Erhöhung der Zelladung.

Wenn wir uns nun nach näherer Analyse der einzelnen die Phagocytose beeinflussenden Faktoren fragen, welche Gründe wir für die von uns beobachtete Verminderung bzw. Steigerung der Phagocytosezahlen angeben können, so müssen wir sagen, daß wir keine genaue Wirkungsabgrenzung der Vielzahl der Faktoren geben können. Die Wirkungsmechanismen sind derart komplex, daß wir nur einige der für unsere Versuche am bedeutendsten erscheinenden Faktoren herauslösen können. Jeder dieser einzelnen Faktoren (Änderung des pH, der Ionenstärke, der Proteinkonzentration) hat je nach Konstellation einen stärkeren Einfluß als die entgegengesetzt wirkenden und umgekehrt.

Es wäre aber wohl fruchtlos, jedes einzelne Zahlenergebnis in der Weise untersuchen zu wollen, wie weit hier der Einfluß der einen Faktoren den der anderen überwiegt.

FOTOGRAFIEN

Die beigefügten Fotografien mögen zeigen, wie sich uns die Präparate nach erfolgter Phagocytose im Mikroskop darboten. Wenn die Schärfe der Bilder zu wünschen übrig läßt, so ist die Ursache in der Körperhaftigkeit der Leukozyten zu suchen, deren Tiefenausdehnung - anders als in einem histologischen Schnittpräparat - sich hier leider deutlich bemerkbar macht.
Bei der starken Vergrößerung auf den Bildern 4, 5 und 6 kann man besonders deutlich das Anhaften der Bakterien an dem Plasmasaum bzw. ihr Umflossenwerden erkennen.
Die Bilder 8 und 9 geben einen Eindruck von den Verformungen, zu denen die Leukozyten, chemotaktisch von den Bakterien angelockt, während der Phagocytose fähig sind.
Die Bilder 1, 2, 3 und 7 stammen von einem Kollidon-Phagocytoseversuch bei einer Verdünnung von 1 : 0,1, die Bilder 4, 5 und 6 von Phagocytoseversuchen mit Dextranzugabe bei gleicher Verdünnung wie oben und die Bilder 8 und 9 von Kollidon-Phagocytoseversuchen bei einer Verdünnung von 1 : 1.

Bild 1

Vergr. 1 : 685

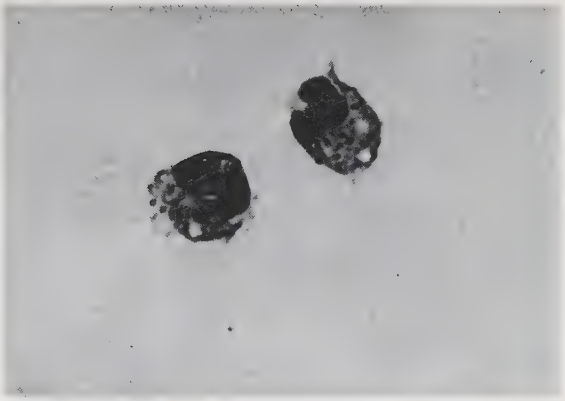


Bild 2

Vergr. 1 : 685

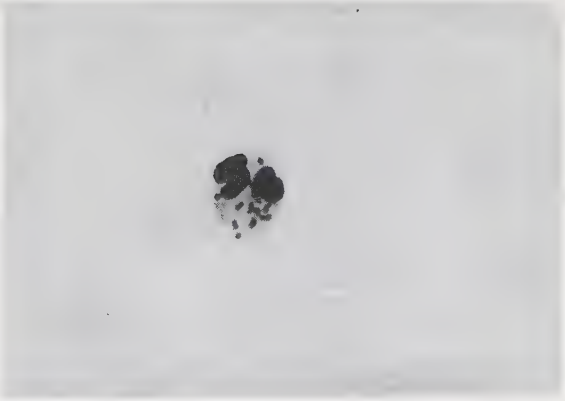
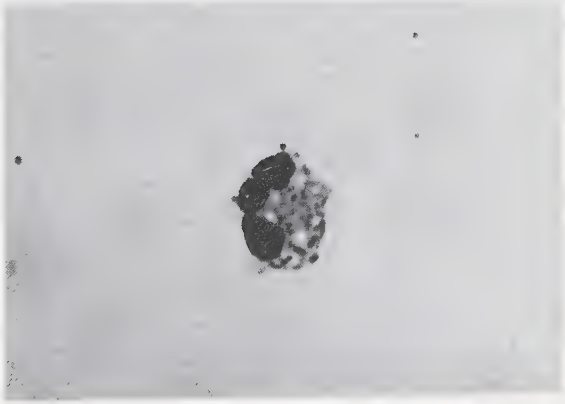


Bild 3

Vergr. 1 : 685



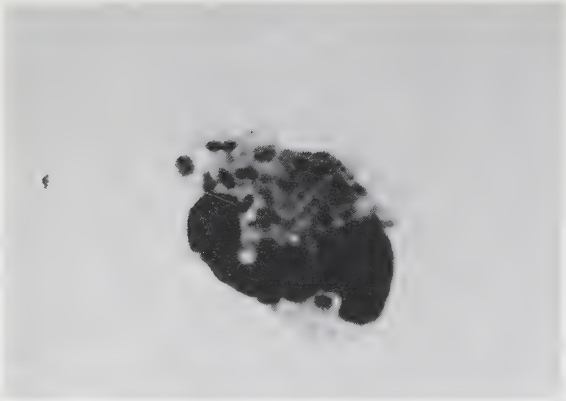


Bild 4

Vergr. 1 : 1400

Bild 5

Vergr. 1 : 1400

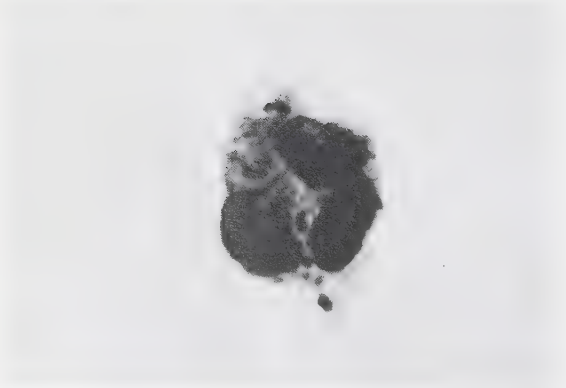


Bild 6

Vergr. 1 : 1400

Bild 7

Vergr. 1 : 685

Bild 8

Vergr. 1 : 245

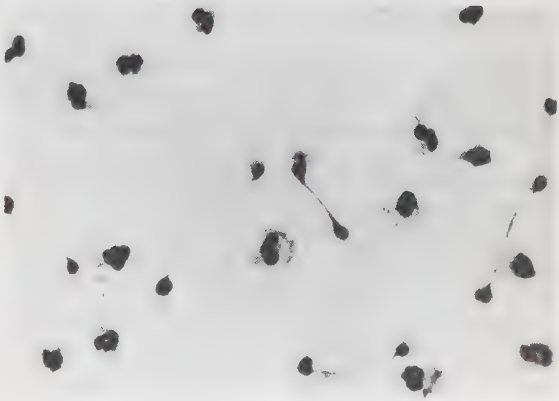
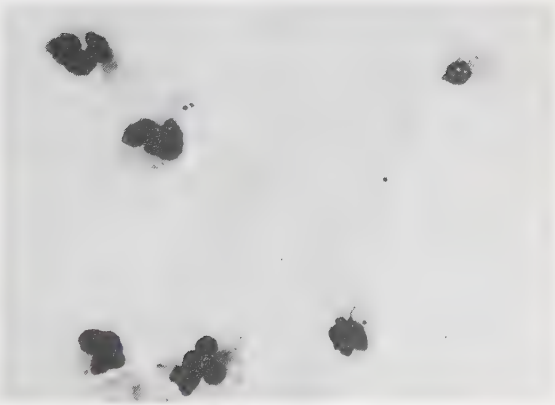


Bild 9

Vergr. 1 : 685



ZUSAMMENFASSUNG

Der Arbeit liegt die Fragestellung zugrunde, ob und gegebenenfalls in welchem Maße Kollidon bzw. Dextran die Zelleistungen - hier speziell die Phagocytose - beeinflussen können.

Die Ergebnisse zeigen, daß bei einer Verdünnung Serum/Kollidon bzw. Serum/Dextran wie 1 : 1 eine Hemmung um fast die Hälfte des normalen Phagocytosevermögens vorliegt. Werden die Mengen der zugegebenen kolloidalen Flüssigkeiten jedoch verringert, so schwindet auch die Hemmung sehr schnell und läßt bei der mittleren Molekulargewichtsfraktion sogar eine geringe Steigerung erkennen.

In therapeutischen Dosierungen, wie sie etwa beim Verhältnis Serum/kolloid. Flüssigkeit = 1/0,1 vorliegen, ist keinerlei Einfluß, sei er fördernd oder hemmend, mehr festzustellen.

Als mögliche Ursachen für die Abweichung der Phagocytosewerte von der Norm werden Ladungsveränderungen der Leukozyten diskutiert, die durch eine pH-Verschiebung, Änderung der Ionenstärke sowie der Proteinkonzentration stattfinden.

Weiterhin wird auf die Möglichkeit der Änderung der Oberflächeneigenschaften der Bakterien hingewiesen.

LITERATURVERZEICHNIS

1.) ADO, A.D.: Zschr. f. d. ges. exp. Med. 79, 752, (1931)

2.) ALLGÖWER, M.: Experientia, (Basel) 6, 107, (1950)

3.) ALLGÖWER, M.: Schweiz. med. Wschr. 40, 12 (1947)

4.) BAUDITSCH, W.: Die Naturwissenschaft 44, 238, (1957)

5.) BAUMGARTNER, W.: Helvet. med. Acta 15, 1, (1948)

6.) BECHHOLD, K.: Münch. med. Wschr. 34, 1777, (1908)

7.) BENNHOLD, H. und G. SEYBOLD: Intern. Kongr. Wiesbaden 1950
Dtsch. med. Wschr. 76, 47,(1951)

8.) BENNHOLD, H. und R. SCHUBERT: Zentralbl. exp. Med. 113, 722, (1944)

9.) DIECKHOFF, J.: Dtsch. med. Wschr. 35, 1021, (1952)

10.) DITTRICH, H.: Physiologie und Physiopathologie der weißen Blutzellen. 568, (1951) Thieme-Verlag

11.) EHRLICH und TÜRK, zitiert von HOFF, F. in Hdbch. d. ges. Hämatologie. 2. Teil, 1, 167, (1959)

12.) FINDLAY, G.M. und H. BROWN: Brit. J. Eper. Path. 15, 148, (1934)

13.) FRITZE, E.: Zschr. klin. Med. 47, 568, (1951)

14.) GRÖNWALL, A. und B. INGELMAN: Acta Physiol. Skandinavia, 7, 97, (1944)

15.) HECHT, G. und H. WEESE: Münch. med. Wschr. 1, 11, (1943)

16.) HAMBURGER, H. J.: Biochem. Zschr. 9, 512, (1908)

17.) HAMBURGER, H. J.: Physikal.-chem. Untersuchungsmethoden über die Phagocytose. Ihre Bedeutung vom allg. biol. und pathol. Gesichtspunkt. Wiesbaden, 1912, Bergmann-Verlag

18.) HANKS.: Journ. Immunol. 38, 159, (1940)

19.) HÖBER, R.: Pflüg. Arch. f. d. ges. Physiol. 102, 196, (1904)

20.) HÖBER, R. und T. KANAI: Klin. Wschr. 1, 209, (1923)

21.) HOFF, F.: Handbuch der ges. Hämatologie, 1, 167, (1955)

22.) HOFF, F.: zitiert nach DITTRICH, H. in Physiologie und Physiopathologie der weißen Blutzellen, 146, (1955)

23.) KESTERMANN, G. und K. VOGT: Dtsch. Arch. klin. Med. 185, 258, (1940)

24.) KETCHEL, E.: J. of exper. Med. 101, 647, (1955)

25.) LEY, R.: Pflügers Arch. f. Physiol. 197, 597, (1922)

26.) OKER-BLOOM: Zschr. f. Immunitätsf. 14, 485, (1912)

27.) OSTERTAG, B., R. SCHUBERT und M. FRITZ: Zschr. klin. Med. 150, 65, (1952/53)

28.) PHILIPSBORN, E. von: Med. Mschr. 12, 100, (1958)

29.) PIPER, W. und G. RUHENSTROTH-BAUER: Klin. Wschr. 34, 11, (1956)

30.) PLANT, G.: Ztschr. für die ges. Neur. und Psychiatrie Bd. 9, 275 (1912)

31.) REINER, L. und O. FISCHER: Zschr. f. Immunforschung 61, 317, (1929)

32.) REMY, D.: Ärztl. Forschung, 1, 294, (1957)

33.) ROBINEAUX, R. und S. BAZIN: C. R. Soc. Biol. 144, 957, (1950)

34.) SCHILLING, V. und E. SCHULZ: Klin. Wschr. 2, 2198, (1923)

35.) SCHUBERT, R.: Neue Med. Welt 3, 78, (1950)

36.) SCHUBERT, R.: Verh. Dtsch. Gesellsch. inn. Med. 303 (1949)

37.) SCHUBERT, R.: Dtsch. med. Wschr. 49, 1489, (1949)

38.) SCHUBERT, R.: Zschr. klin. Med. 145, 608, (1949)

39.) SCHUBERT, R.: Zschr. experim. Med. 131, 90, (1959)

40.) SCHUBERT, R., G. SEYBOLD und H. WUNDT: Dtsch. Zschr. Verd. und Stoffw. 2/3, 63, (1951)

41.) SCHUBERT, R., G. SEYBOLD und H. WUNDT: Zschr. klin. Med. 147, 513, (1951)

42.) SCHUBERT, R. und G. SEYBOLD: Ärztl. Forschung, 2, 80, (1952)

43.) SCHUBERT, R.: Dtsch. med. Wschr. 47, 845, (1951)

44.) SCHUBERT, R., H. FISCHER und V. BORNEMANN: Der Einfluß kolloidaler Lösungen auf die Phagocytose in vitro. (Nicht veröffentlicht)

45.) SIESS, M.: Verh. Dtsch. pharm. Ges., Bd. 2/6, Heft 1/2 (1952)

46.) SIESS, M.: Zschr. exper. Med. 101, 259, (1955)

47.) TULLIUS, H.: Blood cells and Plasma Proteins, Acad. Pr. Inc. 1953

48.) WEESE, H. Dtsch. med. Wschr. 23, 757, (1951)

49.) WEINBRENNER, K.: Zschr. f. Immun. Fschg. 83, 437, (1934)

Herrn Prof. R. Schubert möchte ich für die Überlassung des Themas und seine stets gern gewährte Hilfe danken.

LEBENSLAUF

Ich wurde am 7.10. 1936 in Moers als Sohn des Kaufmanns Wilhelm Niemeyer und seiner Ehefrau Trude geb. Berns geboren. Kurz nach meiner Geburt siedelten wir nach Wien über. Nach dem Besuch der Volksschule in Wien und Moers ging ich auf das Gymnasium Adolfinum in Moers, wo ich im Frühjahr 1958 mein Abitur machte. Anschließend war ich 5 Semester bis zum Physikum an der Universität Marburg immatrikuliert, studierte dann ein Semester in Paris und setzte im Frühjahr 1961 mein Studium in Tübingen fort, wo ich im Herbst 1963 das Staatsexamen ablegte.